



PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : A61K 38/21		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 96/12500 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 2. Mai 1996 (02.05.96)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP95/04099 (22) Internationales Anmeldedatum: 19. Oktober 1995 (19.10.95) (30) Prioritätsdaten: P 44 37 868.8 22. Oktober 1994 (22.10.94) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH [DE/DE]; D-55216 Ingelheim (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): VON BAEHR, Rüdiger [DE/DE]; Märkisches Ufer 22, D-10179 Berlin (DE). VOLK, Hans-Dieter [DE/DE]; Rathausstrasse 11, D-10178 Berlin (DE). STEINMANN, Gerhard, Gustav [DE/DE]; Talackerweg 3, D-89155 Erbach (DE). QUERNER, Susanne, Christine [DE/DE]; Ropachweg 7, D-88400 Biberach (DE).		(81) Bestimmungsstaaten: AU, BR, CA, CN, JP, KR, MX, PL, RU, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.	
(54) Title: INTERFERON- γ TREATMENT OF HLA-DR-ASSOCIATED IMMUNODEFICIENCY. (54) Bezeichnung: BEHANDLUNG VON HLA-DR-ASSOZIIERTER IMMUNDEFIZIENZ MIT INTERFERON- γ (57) Abstract The invention pertains to the use of interferon- γ in treating diseases involving a reduction in HLA-DR expression on monocytes, especially certain forms of septic diseases. (57) Zusammenfassung Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Interferon- γ zur Behandlung von Krankheiten, die mit einer Erniedrigung der monozytischen HLA-DR-Expression verbunden sind, insbesondere bestimmte Formen septischer Erkrankungen.			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

Behandlung von HLA-DR-assoziiierter Immundefizienz mit Interferon- γ

Die Erfindung betrifft die Behandlung von Immundefizienz, die mit ernster und lang andauernder Erniedrigung der monozytischen HLA-DR-Expression verbunden ist, mit Interferon- γ (IFN- γ).

Der Haupt-Histokompatibilitätskomplex (major histocompatibility complex, MHC) spielt eine zentrale Rolle bei der Fähigkeit des Immunsystems, zwischen "Selbst" und "Nicht-Selbst" zu unterscheiden. Der MHC bezieht sich auf ein Cluster von Genen, die für die Produktion von Zellmembran-Oberflächenmolekülen verantwortlich sind. Die Zellmembranmoleküle, die als Antwort auf die MHC-Gene produziert werden, werden als menschliche Leukozytenantigene (human leukocyte antigens, HLA) bezeichnet. Es wurden drei HLA-Klassen identifiziert (vgl. Abb.1). HLA Klasse-I-Antigen (bezeichnet als HLA-A, -B, -C und HLA-E), HLA Klasse-II-Antigen, das als HLA-D bezeichnet wird (DR, DQ, DP, DZ, DX und DV), und HLA Klasse-III (Trowsdale J. *et al.*, Immunology Today 9: 34-35, 1988). Während HLA Klasse-I-Antigene auf der Oberfläche der meisten Zellen des menschlichen Körpers exprimiert werden, werden HLA Klasse-II-Antigene nur auf den Zellmembranen einer begrenzten Zahl von Zelltypen einschließlich Monozyten/Makrophagen und B-Lymphozyten exprimiert.

Antigen-präsentierende Zellen (APC) wie Makrophagen prozessieren das mikrobielle Antigen und präsentieren es in Assoziation mit HLA Klasse-II. T-Helfer-Zellen mit einer Rezeptorbindungsstelle, die spezifisch für dieses Antigen ist, binden an den exponierten Komplex der Makrophagen (Allen P. M., *et al.*, Nature 327: 713 - 716, 1987). Dies aktiviert die T-Helfer-Zellen. Diese aktivierten T-Helfer-Zellen regulieren alle Aspekte der Immunantwort einschließlich der Antikörperproduktion durch B-Lymphozyten und der Aktivität der zytotoxischen T-Zellen. Diese Aktivierung ist also ein kritischer Schritt in der Auslösung der spezifischen Immunantwort. Die Dichte der HLA Klasse-II-Moleküle auf der Zelloberfläche von Makrophagen ist eine der wichtigsten Determinanten bei der Erkennung und Antwort von T-Helfer-Zellen auf prozessiertes Antigen.

Interferon- γ spielt eine zentrale Rolle bei der Regulation und Koordination der Immunantwort. Interferon- γ wird von aktivierten T-Zellen und NK-Zellen synthetisiert (Vilcek J. *et al.*, Lymphokines 11: 1 - 32, 1985). Allein oder in Kombination mit anderen Zytokinen reguliert Interferon- γ viele Aspekte der Immunantwort. Interferon- γ ist ein potenter Aktivator von Makrophagen, die eine zentrale Rolle bei der Phagozytose und Antigenpräsentation spielen. Interferon- γ verstärkt die HLA Klasse-I- und HLA Klasse-II-Expression, intensiviert so die Erkennung durch T-Lymphozyten und Auslösung der spezifischen Immunantwort.

Interferon- γ moduliert die Antikörperproduktion durch B-Lymphozyten, stimuliert die IgG-Produktion und inhibiert die IgE-Produktion. Interferon- γ aktiviert eine große Bandbreite von Zielzellen, die Antigen zerstören können, einschließlich Makrophagen, Granulozyten, Natural Killer Cells (NK-Zellen) und zytotoxische T-Zellen. Insbesondere hat Interferon- γ einen starken Einfluß auf die HLA Klasse-II-Expression. Dies ist bemerkenswert, weil die HLA Klasse-II-Expression durch Antigen-präsentierende Zellen wesentlich für die Auslösung der spezifischen Immunantwort und Antikörperbildung ist (Janeway C A *et al.*, Immunology Today 5: 99 - 105, 1984). Die Dichte der HLA Klasse-II-Expression auf Antigen-präsentierenden Zellen wie Makrophagen/Monozyten beeinflusst direkt das Ausmaß der T-Zellaktivierung. Interferon- γ erhöht die HLA Klasse-II Expression Antigen-präsentierender Zellen und kann die Expression auf Zellen induzieren, die normalerweise HLA Klasse-II-negativ sind, wie Endothel-, Epithel- und endokrine Zellen.

Septische Erkrankungen induzieren eine anfängliche exzessive Entzündungsantwort mit einer dominierenden Produktion von Entzündungszytokinen einschließlich Tumornekrosefaktor (TNF), Interleukin (IL)-1 und IL-6. Dies führt über die Induktion immunsuppressiver Mediatoren (z.B. IL-10, transformierender Wachstumsfaktor β (TGF- β)) zu einer ernsten Immundepression mit Monozyteninaktivierung (Döcke W. *et al.*, In: Reinhart, K., Eyrich, K., Sprung, C. (eds.) Sepsis. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York 1994). Eine ernste und langandauernde Erniedrigung der HLA-DR Expression durch Monozyten wird bei einer Untergruppe von Patienten mit septischem Schock und Organversagen beobachtet. Obwohl diese Untergruppe die anfängliche Phase des septischen Schocks überwunden hat, sind diese immundefizienten Patienten bei Standard-Intensivbehandlung durch eine anschließende ernste und langandauernde Erniedrigung ihrer Anzahl HLA-DR positiver Monozyten charakterisiert. Trotz der Fortschritte durch verbesserte Antibiotikabehandlung und moderne Intensivpflege ist die Mortalität dieser Untergruppe extrem hoch. Diese HLA-DR-assoziierte Immundefizienz ist durch eine Erniedrigung der HLA-DR-Expression von Monozyten auf einen Wert von weniger als 20% charakterisiert (von Baehr R. *et al.*, Z. Klin. Med. 45: 1130 - 1137, 1990; Volk H. D. *et al.*, Behring Inst. Mitt. 88: 208 - 215, 1991). Es ist wichtig anzumerken, daß gesunde Personen oder Sepsispatienten, die die kritische Anfangsphase überwinden, HLA-DR zu mehr als 65-90% auf ihren Monozyten kontinuierlich oder im Anschluß an eine kurze Erniedrigung der monozytischen HLA-DR-Expression exprimieren. Wenn jedoch Sepsispatienten bei der erniedrigten monozytischen HLA-DR Expression für gewöhnlich mehr als drei Tage verharren, ist die Mortalität dieser Patienten extrem hoch (Döcke W. *et al.*, In: Reinhart, K., Eyrich, K., Sprung, C. (eds.) Sepsis. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York 1994). In diesen Patienten ist die Expression von HLA-DQ-Antigen ebenfalls supprimiert. Im Gegensatz dazu sind die HLA Klasse-II-Antigen Expression der B-Lymphozyten und die HLA Klasse-I-Antigen-Expres-

sion normal. Der selektive Verlust der HLA-DR Expression auf der Oberfläche von Monozyten erniedrigt die Fähigkeit der Monozyten/Makrophagen, Antigen zu präsentieren (Volk H. D. *et al.*, The Microbiologist 3: 20 - 26, 1992).

5 Die erniedrigte HLA-DR Expression in dieser Patienten-Untergruppe ist ein gültiger und verlässlicher prognostischer Indikator für einen tödlichen Ausgang oder Überleben (Volk H. D. *et al.*, In: Masihi, K. N. and Lange, W. (eds.) Immunotherapeutic prospects of infectious diseases. Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 1990; Barthlen W. *et al.*, In: Trede Seifert Hartel (eds.) Chirurgisches Forum 1994 für experimentelle und klinische Forschung.
10 Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 1994).

Das U.S.-Patent No. 5198212 vom 30. März 1993 beschreibt die prophylaktische Behandlung von Mäusen, die anschließend einem experimentellen traumatischen Ereignis exponiert werden, die *in-vitro* Behandlung menschlicher Zellen von Patienten mit Trauma
15 und die prophylaktische Behandlung von Patienten mit ernster Verletzung sofort nach der stationären Aufnahme mit Interferon- γ .

Es war bekannt, daß Interferon- γ ein extrem effizienter Verstärker der monozytischen HLA-DR Expression ist. Der kritische Zustand von Sepsis-Patienten mit HLA-DR-
20 Erniedrigung ist jedoch durch eine starke Zunahme der TNF-Sekretion charakterisiert. Ferner war bekannt, daß Interferon- γ in der Lage ist, TNF zu induzieren. Deshalb herrschte in der öffentlichen wissenschaftlichen Diskussion die Ansicht vor, daß die Behandlung von Sepsis-Patienten mit Interferon- γ schädlich sein könnte. Weil Interferon- γ die TNF-Produktion in Monozyten induziert, wurde es immer als ein gefährlicher Wirkstoff für diese Patienten
25 ten und als kontraindiziert betrachtet.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es, Mittel zur Behandlung von Erkrankungen bereitzustellen, die durch eine mit einer Erniedrigung der HLA-DR-Expression verbundenen Immundefizienz charakterisiert sind. Solche Erkrankungen sind insbesondere bestimmte Formen septischer Erkrankungen und schwerer Infektionen.
30

Die Aufgabe konnte durch die Bereitstellung von Interferon- γ als Mittel gelöst werden. Überraschenderweise ergab die Anwendung von Interferon- γ einen therapeutischen Nutzen für die genannte Indikation. Die Erfindung betrifft somit die Verwendung von Interferon- γ zur Behandlung von Erkrankungen, die durch eine Erniedrigung der monozytischen HLA-DR-Antigen-Expression gekennzeichnet sind, insbesondere, wenn sie lang andauernd
35 und ernst ist, sowie pharmazeutische Zusammensetzungen für diese Indikation, die Interferon- γ enthalten. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung von In-

terferon- γ zur Behandlung einer Untergruppe von Patienten, die einen septischen Schock mit oder ohne Organversagen erfahren haben und die durch eine ernste und langandauernde Erniedrigung der monozytischen HLA-DR Expression charakterisiert sind. Besonders vorteilhaft ist die Therapie, wenn die monozytische HLA-DR-Expression < 30% ist und/oder die Dauer der erniedrigten HLA-DR-Antigen-Expression zwei oder mehr Tage beträgt.

Für die Realisierung der vorliegenden Erfindung steht heute dem Fachmann eine Vielzahl an Möglichkeiten zur Verfügung, IFN- γ sowohl über konventionelle Methoden als auch über DNA-Rekombination herzustellen. Wählt er den erstgenannten Weg, kann er sich beispielsweise der Methode nach Yip, Y.K. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79: 1820-4 (1982), oder Yip *et al.*, Infect. Immun. 34(1): 131-9 (1981) bedienen. Für das in neuerer Zeit attraktivere Verfahren, humanes IFN- γ über DNA-Rekombination entweder in prokaryotischen oder in eukaryotischen Systemen herzustellen, kann z. B. nach Gray P.W. *et al.*, Nature 295: 503-508, 1982; Derynck, R. *et al.*, Nucl. Acid. Res. 11: 1819 - 1837, 1983, Simons, G. *et al.* Gene 28: 55 - 64, 1984, Scatill, J. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80: 4654 - 4658, 1983, oder nach EP-A 77 670, EP-A 254 345, EP-A 273 373 verfahren werden. Die Erfindung schließt auch IFN- γ Derivate ein, die nach an sich bekannten Methoden herstellbar sind (z. B. EP-A 170 917, EP-A 219 781). Ebenfalls eingeschlossen sind IFN- γ -Polypeptide, die über bekannte synthetische Verfahren auf der Protein- und DNA-Ebene herstellbar sind (z. B. EP-A 161 504; Tanaka S. *et al.*, Nucl. Acids. Res. 11:1707-23 (1983)).

Für die erfindungsgemäße Anwendung von Interferon kommen die dem Fachmann bekannten und gebräuchlichen pharmazeutischen bzw. galenischen Formulierungen für die jeweilige Applikation in Betracht, vorzugsweise aber die für die parenterale Applikation, insbesondere für die intravenöse, intramuskuläre, subkutane, intrakutane, intraartikuläre, intrathekale, intraperitoneale Infusion oder Injektion, wobei Dauerinfusionen oder intermittierende Infusionen mit den für den Fachmann zur Verfügung stehende n Pumpen oder die Verabreichung via mikroverkapselter Präparate z. B. auf Basis von Liposomen z. B. gemäß der EP-A 213 523 miteingeschlossen sind.

Zur Herstellung einer gebrauchsfertigen Lösung für die erfindungsgemäße Verwendung von Interferon, beispielsweise als Bolusinjektion oder als Injektion oder Infusion, stehen dem Fachmann die ihm zu diesem Zweck bekannten wässrigen Infusions- und Injektionslösungen zur Verfügung, gegebenenfalls zusammen mit den ihm bekannten Hilfs-, Träger- und/oder Stabilisierungstoffen. Eine gebrauchsfertige Lösung für die erfindungsgemä-

Be Verwendung ist beispielsweise auf die Weise herzustellen, indem hochgereinigtes Interferon in "Wasser für Injektionszwecke" oder in mit Phosphat gepufferter physiologischer Kochsalzlösung (pH 7 bis 7,5), gegebenenfalls mit Tween und/oder Gelatine oder einem Albumin supplementiert, vor der Applikation gelöst und in geeignete Gefäße (z. B. Spritzen, Ampullen, Beutel) steril abgefüllt wird.

Die zu verabreichende Menge an Interferon für die erfindungsgemäße Verwendung orientiert sich an den für den Fachmann bekannten Dosierungen, an der Schwere der Erkrankung, an der Ansprechrate und an dem weiteren Verlauf der Erkrankung sowie an den Nebenwirkungen. Allgemein ist daher davon auszugehen, daß die Dosierung nach individuellen Kriterien zu erfolgen hat. Eine mögliche Dosierung sind 25-200 µg, welche mehrmals täglich, oder in täglichen Intervallen gegeben werden kann, wobei die Dauer und Dosis der Interferon-γ Gabe von der erreichten Höhe der HLA-DR Expression abhängt. Es kann in der Regel davon ausgegangen werden, daß Werte von ca. 50% und mehr eine Beendigung der Interferon-γ-Therapie anzeigen

Die Interferon-γ-Therapie kann vorteilhaft mit anderen Therapieformen kombiniert werden, besonders bevorzugt mit einer Antibiotika- oder Antimykotikatherapie. Beispiele für Antibiotika, die in solchen Kombinationen verwendet werden können, sind Ampicillin, Fosfomycin, Cephazolin, Chloramphenicol, Netilmicin, Colistin, Cefotaxim, Cefamandol, Cefoperazon, Polymyxin B, Cefotiam, Cefmenoxim, Cefizoxim, Ceftriaxon, Ceftazidim, Aztreonam, Imipenem, Cilastatin, Gentamicin, Ofloxacin, Cefotetan, Cytarabin, Ciprofloxacin, Teicoplanin, Gentamicin und Amoxicillin. Beispiele für Antimykotika, die in solchen Kombinationen verwendet werden können, sind Amphotericin B, Natamycin, Clotrimazol, Bifonazol, 4-Hexylresorcin, Griseofulvin, Tolnaftat, Miconazolnitrat und Nystatin. Bei kombinierter Therapie können die verschiedenen Wirkstoffklassen gleichzeitig oder sequentiell über die jeweils geeignete Route appliziert werden.

Abbildungen

Abb. 1: Anordnung der humanen MHC-Loci auf Chromosom 6. DP, HLA-DP; DN, HLA-DN; DO, HLA-DO; DQ, HLA-DQ; DR, HLA-DR; die Bezeichnungen A1, A2, B1, B2 usw. kennzeichnen jeweils die verschiedenen α 1-, α 2-, β 1- bzw. β 2-Ketten; BF, Properdin Faktor B (des Complements); C2, Complement-Komponente 2; C4, Gene A und B; CYP21 und CP21P, Cytochrom P450, Steroidhydroxylase-Gene und Pseudogene; RD, wiederholter Dipeptid-Locus; TNF- α und - β , Tumornekrosefaktoren alpha und beta. Pfeile zeigen die Richtung der Transkription an. Die Anzahl und Reihenfolge der Klasse-I-Loci ist unbekannt.

Abb. 2: HLA-DR-Expression von Monozyten eines Sepsispatienten, der mit IFN- γ behandelt wurde (vgl. Beispiel 1). Zytofluorometrische Analyse peripherer mononukleärer Zellen. ICU = Intensivstation.

*Abb. 3: Monozytische HLA-DR-Expression in Patienten (n=10, vgl. Beispiel 2) vor (Tag 0) und nach Behandlung mit 100 μ g/0.5 ml IFN- γ . * p < 0.01.*

*Abb. 4: Plasma-Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- α)-Spiegel in Patienten (n=10) vor (Tag 0) und nach Behandlung mit 100 μ g/0.5 ml IFN- γ . * p < 0.05.*

*Abb. 5: Plasma-Interleukin-6 (IL-6)-Spiegel in Patienten (n=10) vor (Tag 0) und nach Behandlung mit 100 μ g/0.5 ml IFN- γ . * p < 0.05.*

Beispiele

Beispiel 1: Behandlung eines Sepsispatienten

5 Sepsis wurde definiert durch Tachypnoe (Atmung >20 Atemzüge/min. [wenn der Patient mechanisch beatmet wird, >10 l/min., $\text{FiO}_2 > 0.4$ in Anwesenheit von $\text{PEEP} \leq 5$ cm H_2O]), Tachykardie (Herzfrequenz >110 Schläge/min.), Hyperthermie oder Hypothermie (Kern- oder rektale Temperatur $>38.5^\circ\text{C}$ oder $<35.6^\circ\text{C}$).

10 Mononukleäre Zellen aus peripherem Blut eines Sepsispatienten wurden durch zytofluorometrische Analyse auf HLA-DR-Expression untersucht. Dabei wurde die Methode gemäß Döcke *et al.* (Döcke, W. D., P. Reinke, R. v. Baehr, H.-D. Volk. Monitoring der monozytären HLA-DR-Antigenexpression bei Transplantation und Sepsis. In: Schmitz, G., G. Rothe (Hrsg.). Durchflußzytometrie in der klinischen Zelldiagnostik. S. 163-177. Stuttgart, New York. Schattauer, 1994.) verwendet, worauf vollinhaltlich Bezug genommen wird.

Die Therapie des Sepsispatienten bestand aus einem optimalen Antibiotika/Antimykotika-Schema und Interferon- γ . Als Antibiotika wurden Vancomycin (750 mg, i.v., Wirkstoff Vancomycin-HCl), Fortum (6 g, i.v., Wirkstoff Ceftazidim $\times 5 \text{ H}_2\text{O}$), Certomycin (400 mg, i.v., Wirkstoff Netilmicinsulfat), Targocid (800 mg, i.v., Wirkstoff Teicoplanin) und Tobramycin (120 mg, i.v.) gegeben. Als Antimykotika wurden prophylaktisch Diflucan (200 mg, i.v., Wirkstoff Fluconazol) und Ampho-moronal (8 ml, per os, Wirkstoff Amphotericin B) gegeben. Die Interferon- γ -Gabe (100 $\mu\text{g}/0.5\text{ml}$, subkutan) begann am 2. Tag einer erniedrigten HLA-DR Expression $<30\%$. Die Interferon- γ -Therapie wurde beendet, als die HLA-DR Expression einen Wert von über 50% erreicht hatte.

Der Sepsispatient (Abb.2) zeigte eine Immundefizienz mit signifikant erniedrigter HLA-DR-Expression (22%). Interferon- γ -Therapie führte zu einer vorübergehenden Erholung der HLA-DR-Antigen-Expression, einem weiteren Absinken (Tag 12-15) und schließlich zu einer andauernden Erholung mit normaler HLA-DR-Expression. Die Dauer des Aufenthalts auf der Intensivstation während der Studie betrug lediglich 9 Tage. Der Patient überlebte.

Beispiel 2: Behandlung von 10 Sepsispatienten**Patientenauswahl**

5 Zehn Patienten im Alter zwischen 18 und 80 Jahren, die mit septischem Syndrom in die Intensivstation kamen, wurden für die Behandlung ausgewählt. Septisches Syndrom wurde definiert als klinischer Beleg, der für eine Infektion spricht, plus Anzeichen einer systemischen Antwort auf die Infektion, Tachypnoe (Atemung > 20 Atemzüge [wenn Patienten mechanisch beatmet wurden, > 10 l/min, $\text{FiO}_2 > 0.4$ in der Gegenwart von $\text{PEEP} \leq 5$ cm

10 H_2O]), Tachykardie (Herzfrequenz > 110 Schläge/min), Hyper- oder Hypothermie (Kern- oder rektale Temperatur $> 38.5^\circ\text{C}$ oder $< 35.6^\circ\text{C}$), plus Nachweis veränderter Organperfusion (mindestens einer der folgenden Parameter): $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ nicht höher als 280 (bei Abwesenheit anderer pulmonarer oder kardiovaskulärer Erkrankungen), Laktatspiegel über der oberen Grenze des Normalwertes (< 1.5 mmol/L) oder Nierenversagen (Urinabgabe < 5 ml

15 $\text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ oder > 12 ml $\text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$, oder Serum-BUN ≥ 100 mg/100 ml oder 35.7 mmol/l Harnstoff, oder Serum-Kreatinin ≥ 2.5 mg/100 ml). Wenn diese Kriterien erfüllt wurden, wurden HLA-DR+-Monozyten überwacht und Patienten dann in die Studie eingeschlossen, wenn HLA-DR+-Monozyten an zwei aufeinanderfolgenden Tagen unter 30% fielen.

20 Patienten, die schwanger waren oder laktierten, an bestätigten Anfällenkrankungen litten, bei denen Überempfindlichkeit für IFN γ bekannt war, bei denen ein positiver HIV-Serotyp oder primäre Immundefizienz bekannt war, die zytostatische oder immunsuppressive Wirkstoffe, z.B. Cyclosporin A oder Azathioprin erhielten, die innerhalb der vorangegangenen 24 Tage mit nichtzugelassenen Testsubstanzen behandelt worden waren oder innerhalb

25 der vorangegangenen 30 Tage Interferon- α , - β , oder - γ oder immunmodulatorische Substanzen, z.B. monoklonale Antikörper wie anti-TNF, Kolonie-stimulierende Faktoren, Interleukine oder Erythropoietin während der letzten 24 Stunden von dem Beginn der Studie erhalten hatten, wurden von der Studie ausgeschlossen.

30

Behandlung

Interferon gamma-1b (Imukin[®], Boehringer Ingelheim, Deutschland) wurde als sterile Injektionslösung bezogen. Jedes Gefäß enthielt 100 $\mu\text{g}/0.5$ ml IFN- γ .

35

Vor und nach der Behandlung wurde eine komplette medizinische Untersuchung durchgeführt. Die Schwere der Erkrankung bei Eintritt in die Studie wurde anhand der

Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II -Bewertung ermittelt (Knaus W A *et al.*, *Crit. Care Med.* 13: 818-29 (1985)).

Die Behandlung wurde so lange fortgesetzt, bis die HLA-DR-Expression für 3 Tage oberhalb 50 % blieb. Der beabsichtigte Behandlungszeitraum betrug 28; der Beobachtungszeitraum 28 Tage. Jeder Patient erhielt täglich zum jeweils gleichen Zeitpunkt vor Mittag eine subkutane Injektion von 100 µg/0.5 ml IFN-γ in den Oberarm, Oberschenkel oder Abdomen, jedoch nicht in der posterioren Region. Die Patienten wurden kontinuierlich auf Toleranz überwacht.

Überwachung der Wirksamkeit

Der primäre Endpunkt dieser Untersuchung war die Zunahme der HLA-DR+-Expression auf Monozyten, die im Blut gemessen wurde. Sekundäre Endpunkte waren sepsisbedingte Mortalität, Labor- und klinische Auswertung, und Zytokin-Plasmaspiegel (TNF-α, IL-6). Alle Auswertungen wurden für jeden Patienten vom gleichen Arzt ausgeführt. Alle unerwünschten Nebenwirkungen wurden sorgfältig dokumentiert und protokollgemäß gehandhabt.

Laboruntersuchungen

Zur Messung der immunologischen Parameter und für Laboruntersuchungen wurden den Patienten während der Untersuchung 10 ml Blut abgenommen. Die folgenden Parameter wurden gemessen: Leukozyten, juvenile und polymorphnukleäre Neutrophile, Eosinophile, Basophile, Lymphozyten, Monozyten, Hämoglobulin, Hämatokrit, Erythrozyten, Thrombozyten, Kreatinin, Harnstoff, Gesamtbilirubin, Quick-Test, PTT, Proteinelektrophorese (einschließlich Serumgesamtprotein), AST, ALT und alkalische Phosphatase. Zusätzlich wurde eine Urinanalyse im Hinblick auf pH, Protein, Glukose, Erythrozyten, Leukozyten, Epithelzellen, Zylinderzellen und Bakterien durchgeführt. Zusätzlich wurde die HLA-DR-Expression auf CD14+-Monozyten zytofluorometrisch gemessen (Döcke *et al.*, *loc. cit.*; s. auch Ziegler *et al.*, *N. Engl. J. Med.* 324: 429-36 (1991)). TNF-α und IL-6 wurden mit einem kommerziell erhältlichen quantitativen "Sandwich"-Enzym-Immunoassay bestimmt (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Der Assay verwendet einen monoklonalen Antikörper, der spezifisch für TNF-α oder IL-6 ist, der auf eine Mikrotiterplatte geschichtet ist, und einen enzymgekoppelten polyklonalen Antikörper, der spezifisch für das

Zytokin ist, das nach dem Waschen zugegeben wird. Die Sensitivität des Assays ist 0.70 pg/ml (IL-6) bzw. 2.0 pg/ml (TNF- α).

5 *Klinische Messungen*

Während der Intensivbehandlung wurden Körpertemperatur, Herzfrequenz, Atemfrequenz und Blutdruck überwacht. Die Blutgase (SaO₂, paO₂, paCO₂), pH und FiO₂ wurden täglich aufgezeichnet.

10

Andere therapeutische Maßnahmen

Alle anderen therapeutischen Maßnahmen wie mechanische Beatmung, intermittierende Hämodialyse, kontinuierliche Hämofiltration oder Hämodiafiltration wurden täglich aufgezeichnet.

15

Statistische Analyse

20

Unterschiede in den Zytokinspiegeln und anderen Parametern beim Studieneintritt und nach Behandlung wurden mit einer Kruskal-Wallis-Ein-Weg-Varianzanalyse verglichen. Zahlen sind als Mittelwerte \pm Standardfehler der Mittelwerte dargestellt.

25

Ergebnisse

Klinische Charakteristika: Insgesamt 10 Patienten wurden in dieser Pilotstudie untersucht. Die demographischen und klinischen Daten der Patienten sind in Tabelle 1 gezeigt. Alle Patienten waren ernsthaft erkrankt. Ein Patient hatte einen septischen Schock, die verbleibenden Patienten hatten schwere Sepsis mit multipler Organdysfunktion. 9 von 10 zu behandelnden Patienten (intent-to-treat) erholten sich von der Sepsis während oder kurz nach der IFN- γ -Therapie, jedoch trat in zwei Patienten in einem späteren Stadium nach Be-

30 endigung der IFN- γ -Therapie erneut Sepsis auf. Der mittlere Behandlungszeitraum betrug 6

35 Tage und reichte von 4 bis 11 Tagen. Nach dem Ende der 28tägigen Beobachtungsphase hatten sich 7 von 10 Patienten von der Sepsis erholt. Die Mortalitätsrate über den gesamten 28-Tage-Zeitraum unter Einbeziehung aller Todesursachen betrug 40%. Von den 4 Nicht-

überlebenden starben 2 an Sepsis und die anderen beiden an der zugrundeliegenden Krankheit ohne Anzeichen von Sepsis.

5 *HLA-DR + Monozyten:* Die IFN- γ -Therapie führte zu einer Erholung der erniedrigten HLA-DR-Expression auf Monozyten (Abb. 3). 8 von 10 Patienten zeigten eine Zunahme der monozytischen HLA-DR-Expression innerhalb eines Behandlungstages, während die anderen beiden innerhalb von 2 bis 3 Tagen ansprachen. Am Tag 1 der Behandlung nahmen die HLA-DR+-Monozyten von einem vor-Behandlungsniveau von 27 ± 6 auf 62 ± 8 % ($p < 0.01$) zu und blieben während des 28-Tage-Beobachtungszeitraums in 8 Patienten erhöht.
10 Die Verabreichung von IFN- γ wurde fortgesetzt, bis der Anteil an HLA-DR+-Monozyten für wenigstens 3 Tage > 50 % stabil blieb. Zwei Patienten erhielten ein zweites Mal IFN- γ nach einem erneuten Abfall der HLA-DR+-Monozyten auf < 30 %, um die erniedrigte HLA-DR-Antigenexpression auf Monozyten wiederherzustellen.

15 *Zytokine:* Die Erholung der monozytischen HLA-DR-Antigenexpression während der Behandlung mit IFN- γ wurde von der Wiederherstellung der monozytischen Funktion begleitet. Die letztere wurde durch eine signifikante Zunahme der TNF- α - ($p < 0.05$) und IL-6- ($p < 0.05$) Plasmaspiegel in allen 10 Patienten während der Behandlung reflektiert (Abb. 4 und 5).

20 IFN- γ wurde von den Patienten gut toleriert und keine durch klinische oder Laborbefunde belegte nachteiligen Wirkungen beobachtet. Verschlechterungen im Zustand der Patienten oder deren Laborwerten, wie sie beschrieben wurden, entsprachen dem Verlauf der zugrundeliegenden Krankheiten. Die IFN- γ -Behandlung induzierte eine Erniedrigung der
25 Körpertemperatur ($p < 0.05$). Während der 28tägigen Beobachtungsphase wurden keine signifikanten Änderungen bei systolischen oder diastolischen Drücken oder Leukozytenzahlen beobachtet.

Tabelle 1: Demographische Daten der Patienten

<i>Patient Nr.</i>	<i>Alter</i>	<i>Geschlecht</i>	<i>Diagnose</i>	<i>APACHE II- Wert</i>	<i>Ergebnis nach 28 Tagen</i>
1	69	M	Mediastinitis nach CABG und Rethorakotomie	19	S
2	36	M	Infiziertes subdurales Hämatom	23	S
3	64	F	Bösartiger Thalamustumor, Pneumonie	36	NS
4	61	M	Meningeom, PE, Pneumonie	23	NS
5	59	F	Aorto-bifemorales Bypass-Transplantat, Peritonitis	18	S
6	62	M	CABG, Sternum-Osteomyelitis	35	NS
7	64	M	Aorten-Klappenersatz, Pneumonie	31	S
8	65	M	Aorto-bifemorales Bypass-Transplantat, Nekrotisierende Pankreatitis	20	NS
9	56	F	Zervikales Meningeom, Pneumonie	17	S
10	59	F	CABG, PE, Nierenversagen, Sternum-Osteomyelitis, Mediastinitis	36	S

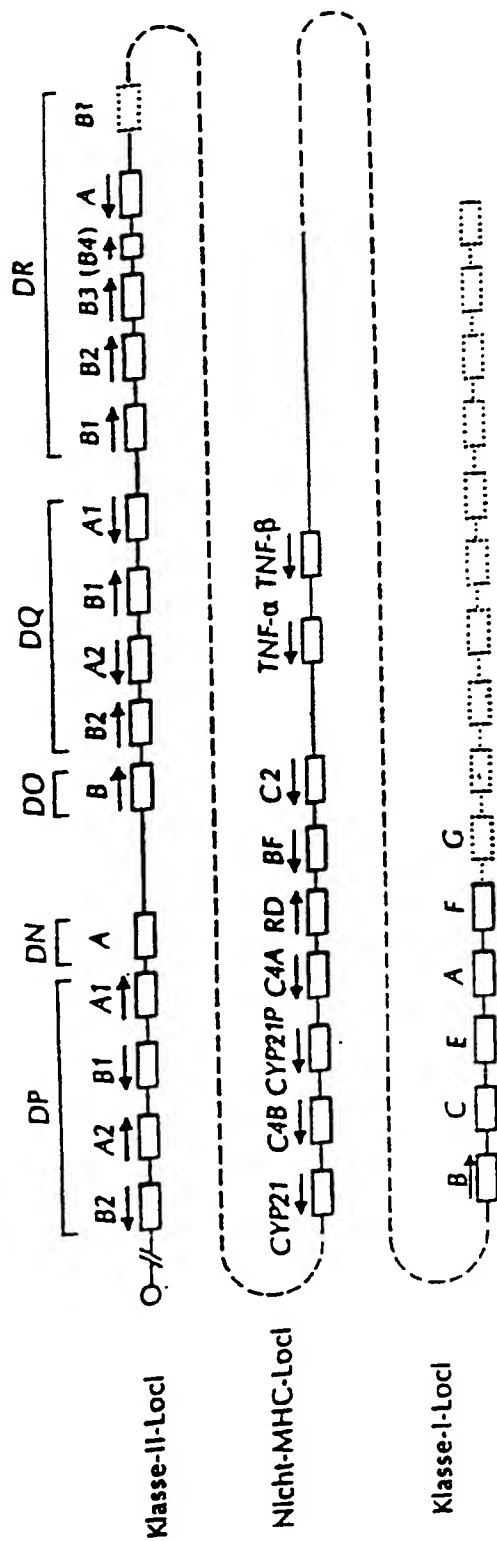
M = männlich, F= weiblich, S = Überlebender, NS = Nicht-Überlebender, CABG = koronararterielles Bypass-Transplantat, PE = pulmonärer Embolus

Ansprüche

1. Verwendung von Interferon- γ zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Erkrankungen, die durch eine Erniedrigung der monozytischen HLA-DR-Antigen-Expression gekennzeichnet sind.
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Erkrankung eine septische Erkrankung und/oder eine schwere Infektion ist.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Medikament für die parenterale Gabe von Interferon- γ in einer Dosierung von 25-200 μ g ein- oder mehrmals täglich, oder in täglichen Intervallen, geeignet ist.
4. Verwendung nach Anspruch 1 bis 3, wobei die monozytische HLA-DR-Expression < 30% ist..
5. Verwendung nach Anspruch 1 bis 4, wobei die Dauer der erniedrigten HLA-DR-Antigen-Expression zwei oder mehr Tage beträgt.
6. Verwendung nach Anspruch 1 bis 5, wobei das Interferon- γ zusammen mit einem oder mehreren Antibiotika gegeben wird.
7. Verwendung nach Anspruch 6, wobei eines der Antibiotika ein antibakterielles Agens ist.
8. Verwendung nach Anspruch 1 bis 7, wobei das Interferon- γ zusammen mit einem oder mehreren Antimykotika gegeben wird.
9. Verwendung von Interferon- γ zur Behandlung von Erkrankungen, die durch eine Erniedrigung der monozytischen HLA-DR-Antigen-Expression gekennzeichnet sind.
10. Verwendung nach Anspruch 9, wobei die monozytische HLA-DR-Expression < 30% ist.
11. Verwendung nach Anspruch 9 oder 10, wobei die Dauer der erniedrigten HLA-DR-Antigen-Expression zwei oder mehr Tage beträgt.

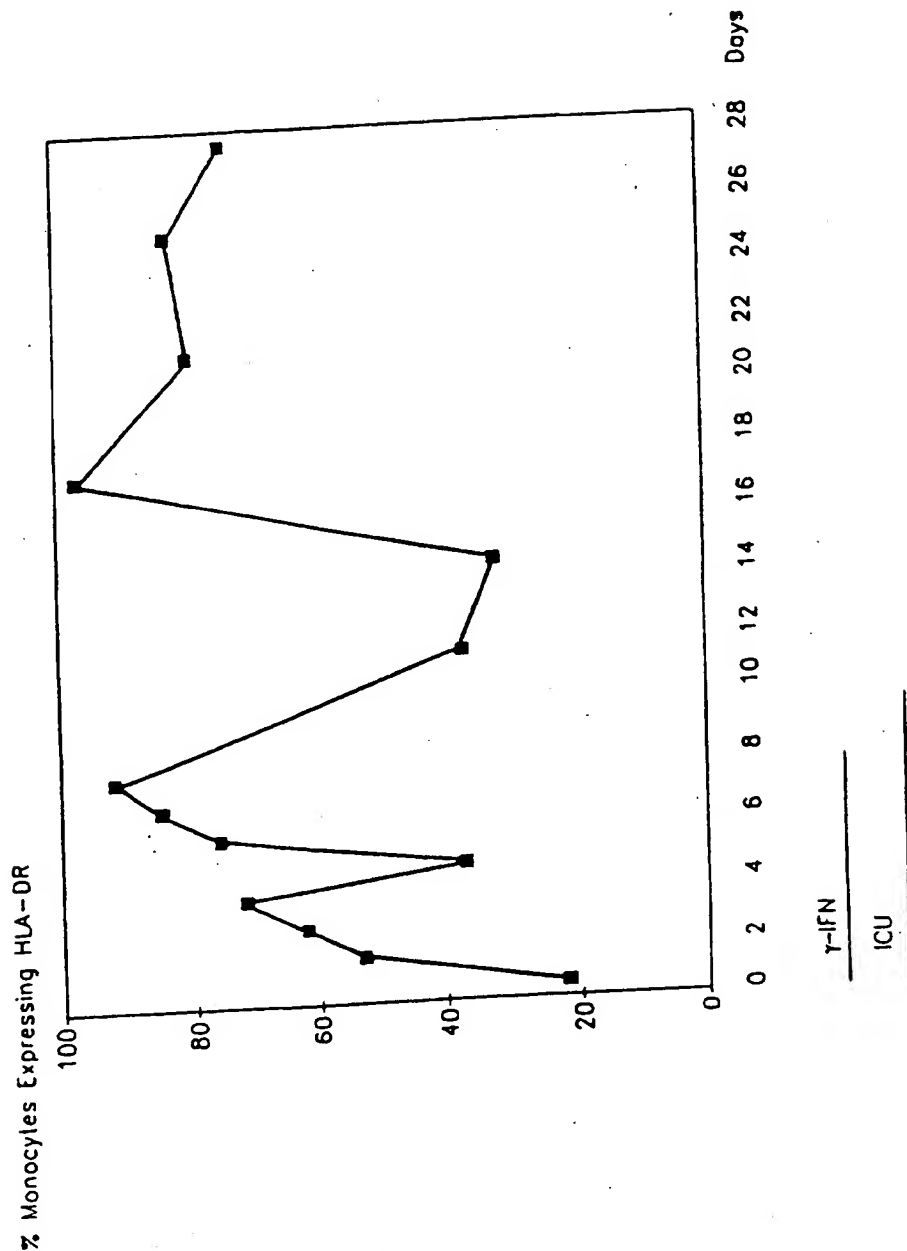
1/5

Abb. 1



2/5

Abb. 2
PATIENT 1



3/5

HLA-DR+ Monozyten

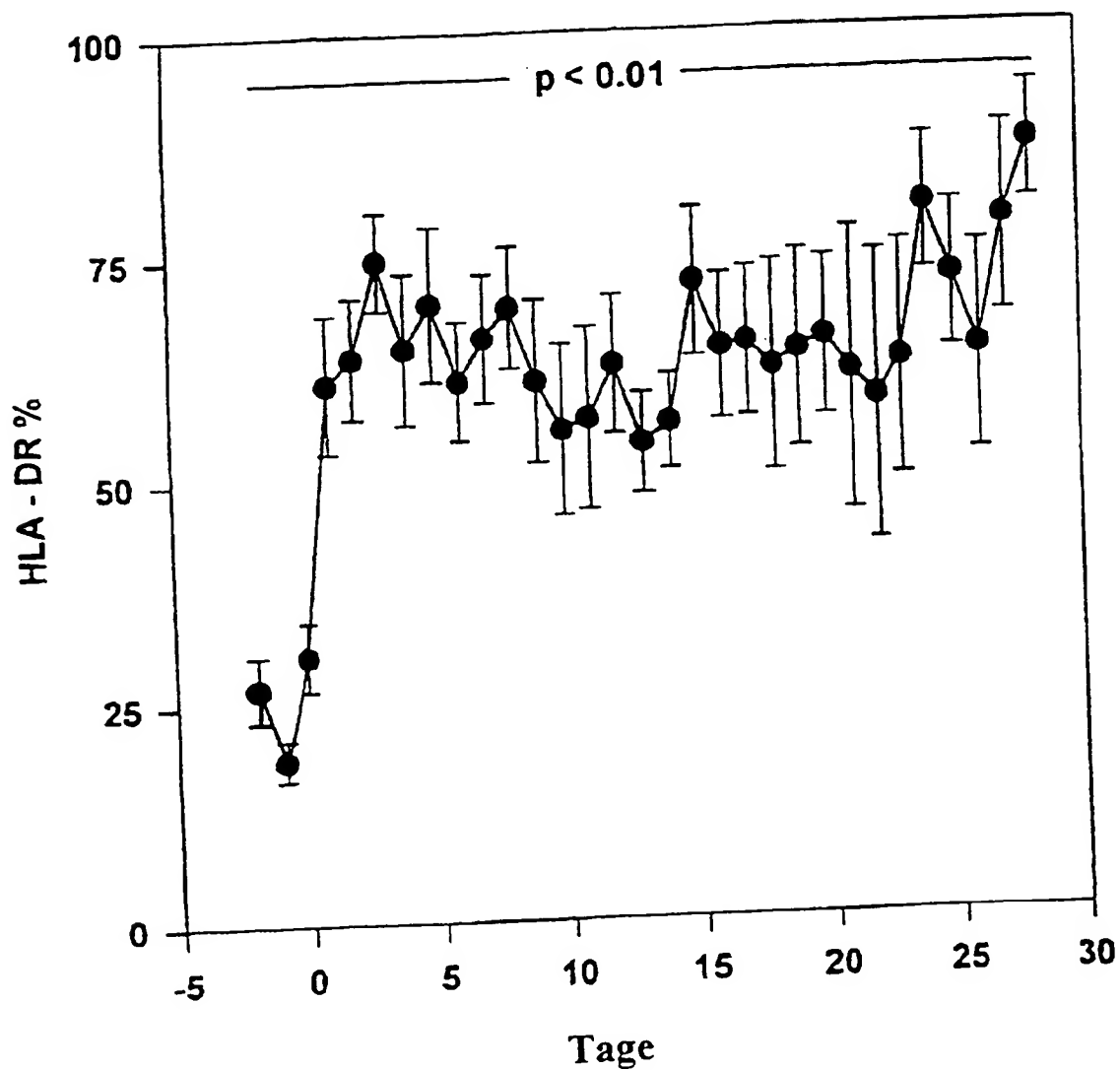


Abb. 3

4/5

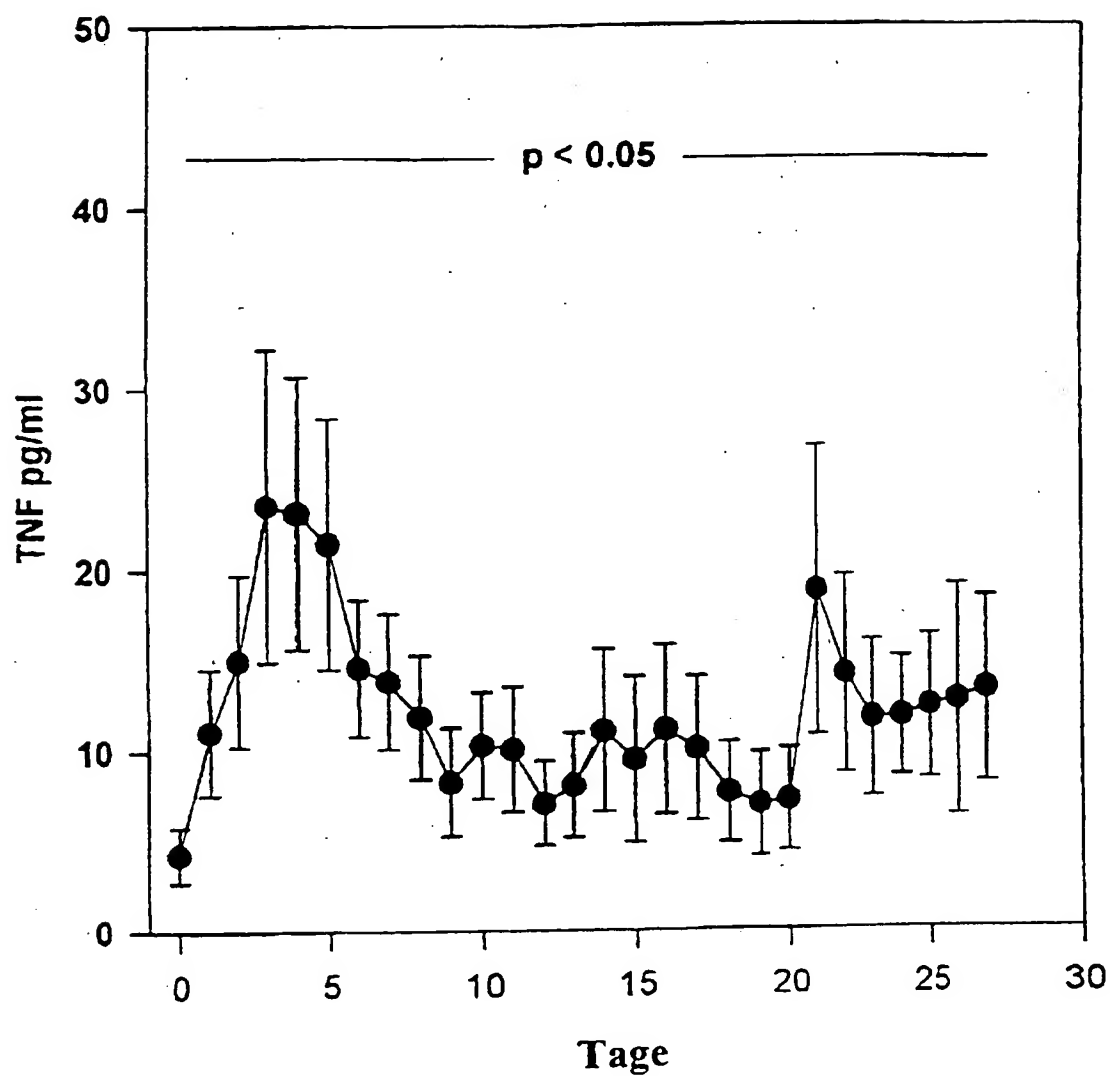
TNF- α 

Abb. 4

5/5

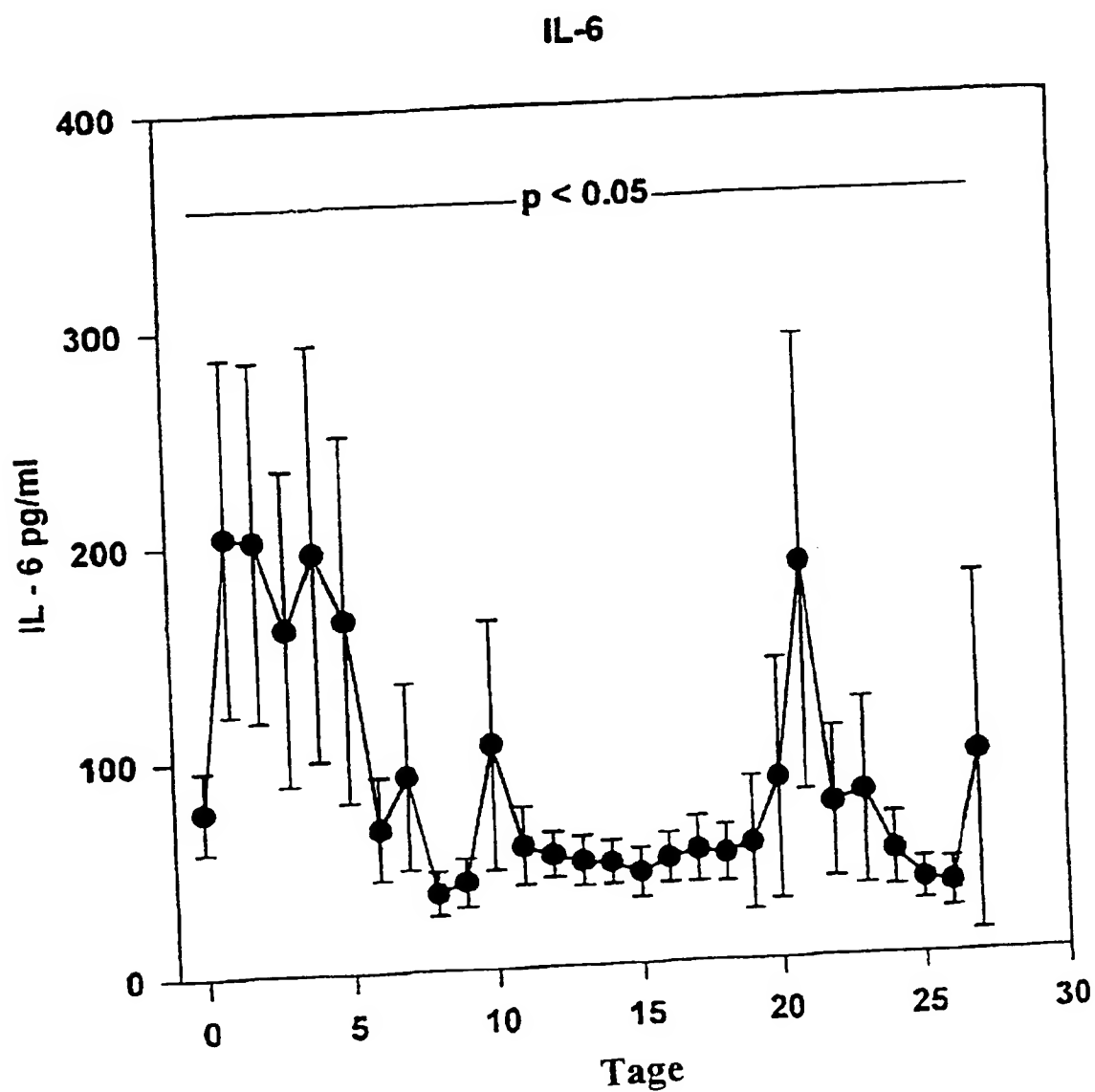


Abb. 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application

PC1/EP 95/04099

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 A61K38/21

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US,A,5 198 212 (HIRAM C. POLK JR.) 30 March 1993 cited in the application see the whole document	1-11
X	BEHRING INSTITUTE MITTEILUNGEN, vol. 88, 1991 MARBURG, pages 208-215, VOLK H.-D. ET AL 'Alterations in function and phenotype of monocytes from patients with septic disease- Predictive value and new therapeutic strategies' see the whole document	1-11

-/--



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 February 1996

Date of mailing of the international search report

06.03.96

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fernandez y Branas, F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC1/EP 95/04099

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CLINICAL EXPERIMENTAL IMMUNOLOGY, vol. 77, 1989 OXFORD, pages 67-70, HERSHMAN M.J. ET AL 'Interferon-gamma treatment increases HLA-DR expression on monocytes in severely injured patients' see the whole document ---	1-11
X	INFECTION AND IMMUNITY, vol. 56, no. 9, 1988 WASHINGTON US, pages 2412-2416, HERSHMAN M.J. ET AL 'Modulation of Infection by gamma interferon treatment following trauma' see the whole document ---	1-11
X	CLINICAL AND EXPERIMENTAL IMMUNOLOGY, vol. 75, 1989 OXFORD, pages 371-375, GIBBONS R.A. ET AL 'Reduction in HLA-DR, HLA-DQ and HLA-DP expression by Leu-M3+ cells from the peripheral blood of patients with thermal injury' see the whole document ---	1-11
A	EP,A,0 356 900 (BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL G.M.B.H.) 7 March 1990 see the whole document -----	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP95/04099

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 9-11
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Remark: Although claims 9-11 relate to a method for treatment of (a diagnostic procedure carried out on) the human or animal body, the search was nonetheless carried out, based on the indicated effects of the compound.

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 95/04099

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
-------------------------------------------	---------------------	----------------------------	---------------------

US-A-5198212

30-03-93

NONE

EP-A-356900

07-03-90

DE-A-

3829180

08-03-90

CA-A-

1332222

04-10-94

JP-A-

2111730

24-04-90

INTERNATIONALER RESEARCH-BERICHT

Internationales Aktenzeichen

PC1/EP 95/04099

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 A61K38/21

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US,A,5 198 212 (HIRAM C. POLK JR.) 30.März 1993 in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument ---	1-11
X	BEHRING INSTITUTE MITTEILUNGEN, Bd. 88, 1991 MARBURG, Seiten 208-215, VOLK H.-D. ET AL 'Alterations in function and phenotype of monocytes from patients with septic disease- Predictive value and new therapeutic strategies' siehe das ganze Dokument --- -/-	1-11

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:

- * 'A' Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- * 'E' älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- * 'L' Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen, besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- * 'O' Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- * 'P' Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

* 'T' Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

* 'X' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

* 'Y' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

* 'Z' Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

15. Februar 1996

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

06. 03. 96

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Fernandez y Branas, F

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	CLINICAL EXPERIMENTAL IMMUNOLOGY, Bd. 77, 1989 OXFORD, Seiten 67-70, HERSHMAN M.J. ET AL 'Interferon-gamma treatment increases HLA-DR expression on monocytes in severely injured patients' siehe das ganze Dokument ---	1-11
X	INFECTION AND IMMUNITY, Bd. 56, Nr. 9, 1988 WASHINGTON US, Seiten 2412-2416, HERSHMAN M.J. ET AL 'Modulation of Infection by gamma interferon treatment following trauma' siehe das ganze Dokument ---	1-11
X	CLINICAL AND EXPERIMENTAL IMMUNOLOGY, Bd. 75, 1989 OXFORD, Seiten 371-375, GIBBONS R.A. ET AL 'Reduction in HLA-DR, HLA-DQ and HLA-DP expression by Leu-M3+ cells from the peripheral blood of patients with thermal injury' siehe das ganze Dokument ---	1-11
A	EP,A,0 356 900 (BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL G.M.B.H.) 7.März 1990 siehe das ganze Dokument -----	1-11

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 1 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr. 9-11
weil Sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Bemerkung: Obwohl die Ansprüche 9-11 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des (ein Diagnoseverfahren durchgeführt am) menschlichen/tierischen Körpers bezieht, wurde trotzdem eine Suche durchgeführt, die auf den angegebenen Effekten der Verbindung basiert.
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Internationale Recherchenbehörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen enthalten:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 95/04099

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US-A-5198212	30-03-93	KEINE	
EP-A-356900	07-03-90	DE-A- 3829180	08-03-90
		CA-A- 1332222	04-10-94
		JP-A- 2111730	24-04-90

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☒ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

This Page Blank (uspto)